

· 综述 ·

恶性腹腔积液的分子机制及治疗进展

刘会岭, 陈兴秀, 蔡小萍, 毕益明, 刘毅 (滨州市人民医院肿瘤二科, 山东 滨州 256600)

【摘要】 恶性腹腔积液(malignant peritoneal ascites,MPE)是由恶性肿瘤局部侵犯腹膜或者转移所引起的液体在腹膜腔内的病理性聚积,常提示恶性肿瘤复发或晚期,预后差。原发肿瘤的位置不同,MPE的形成机制不同。腹膜转移所引起的MPE,其产生机制与腹膜本身结构的特征及多种蛋白酶、黏附分子、细胞因子及血管生成因子等的协同参与有关。目前MPE可采用全身化疗、局部治疗、全身化疗联合局部治疗等多种治疗方式。本文就腹腔积液形成的机制,尤其是腹膜转移机制方面进行综述,同时探讨MPE的治疗进展。

【关键词】 恶性腹腔积液; 腹膜转移; 腹腔化疗

Molecular mechanism and treatment progress of malignant peritoneal effusion LIU Hui-ling, CHEN Xing-xiu, CAI Xiao-ping, BI Yi-ming, LIU Yi. Binzhou People's Hospital, Binzhou, Shandong Province 256600

【Abstract】 Malignant peritoneal ascites (MPE) is the pathological accumulation of malignant peritoneal fluid in the peritoneal cavity caused by local invasion or metastasis of malignant tumors, which often indicates that malignant tumors are recurrent or advanced with poor prognosis. The formation mechanism of MPE varies with the location of primary tumor. The mechanism of MPE induced by peritoneal metastasis is related to the characteristics of peritoneal structure and the synergistic participation of various proteases, adhesion molecules, cytokines and angiogenesis factors. At present, MPE can be treated by systemic chemotherapy, local treatment, systemic chemotherapy combined with local treatment and other treatment methods. This article reviews the mechanism of peritoneal effusion formation, especially peritoneal metastasis, and discusses the progress of MPE therapy.

【Key words】 Malignant peritoneal ascites; Peritoneal metastasis; Intraperitoneal chemotherapy

我们在临床工作中发现许多恶性肿瘤可以导致MPE的发生,甚至有的恶性肿瘤患者以腹腔积液就诊。其中,男性患者以胃肠道恶性肿瘤多见,尤以胃癌常见,女性则以卵巢癌多见,其他如肺癌、乳腺癌、结直肠癌、恶性腹膜间皮瘤、恶性淋巴瘤、肝癌等也可引起^[1]。当出现恶性腹腔积液时,1年生存率不到10%,多数中位生存期不足20周。恶性腹腔积液系腹膜广泛转移,尤其是消化道肿瘤,多提示恶性肿瘤晚期,预后差^[1,2]。其产生除了肿瘤局部侵犯腹膜结构,还与多种细胞因子有关。近年来,我们发现MPE患者多以腹腔局部情况恶化死亡,因远处转移死亡者较少,仅单纯全身化疗效果欠佳。随着抗血管生成、靶向药物及免疫药物等多种治疗手段的出现,恶性腹腔积液患者预后较前改善。本文就腹腔积液形成的机制,尤其是腹膜转移机制方面进行综述,同时探讨MPE的治疗进展。

1 腹膜结构

腹膜是由间皮层、基底膜、结缔组织3层结构组成。间皮层为单层扁平连续的间皮细胞(peritoneal mesothelial cells, PMCs),间皮细胞腹腔侧有丰富的微绒毛,胞浆内有很多胞饮小体和小囊,具有强大的分泌功能,能分泌大量磷脂、纤维蛋白、白介素、生长因子、黏附蛋白及其他物质,维持腹腔内环境稳定、细胞外基质的合成和降解、调节局部血管张力。基底膜支撑间皮层,是一道天然的选择性细胞屏障,组织纤维母细胞与间皮细胞接触,但不影响巨噬细胞及白细胞等穿透基底膜。结缔组织主要为胶原纤维,含有细胞、血管、淋巴管等。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中有纤维母细胞、组织巨噬细胞、肥大细胞等参与维持腹膜功能的平衡。

2 恶性腹腔积液的产生机制

恶性腹腔积液原因尚未完全阐明。已知的比如:肿瘤细胞阻塞淋巴管、淋巴回流受阻;腹膜转移,血管内皮细胞受损,血管通透性增加;患者营养消耗、恶液质状态,血浆

基金项目:山东省适宜卫生技术疼痛科推广项目(腹腔化疗治疗恶性腹水的推广应用)

通信作者:陈兴秀,TEL:0543-3282415,E-mail:juzidoctor@163.com

胶体渗透压降低,加重腹腔积液形成。淋巴瘤、恶性肿瘤腹膜后淋巴结转移等可阻塞淋巴管,引起腹腔积液。肝癌、门静脉癌栓等可导致门静脉高压,致使腹腔积液形成。对于消化道肿瘤、卵巢癌等恶性肿瘤引起的腹腔积液中,腹膜转移(peritoneal metastasis, PM)尤为关键、复杂,其机制尚未完全阐明。最为经典的理论为“种子-土壤”学说^[3]。“种子”即为侵犯至浆膜外的肿瘤脱落及经淋巴管道及血管转移溢出腹腔的脱落肿瘤细胞(exfoliated cancer cell, ECC),“土壤”即为腹膜或手术后裸露的间皮下组织。肿瘤细胞自原发灶脱落,移动并黏附至腹膜进而侵袭至间皮下组织,随着新生血管形成完成种植。其形成机制的研究现已深入到分子生物层面。较高生物活性的ECC往往需要是在多种基因及信号通路的协同作用下,生长分化出具有侵袭性的细胞亚群,才具备浸润、转移的能力。

2.1 高侵袭性的ECC Kazuyoshi Y等^[3]通过建立腹膜转移的动物模型,发现高度转移性的44As3细胞系较转移性差的细胞系MMP1、cathepsin L和nm23高表达。而在高度转移的58As1和58As9细胞系中,cathepsin L、抗黏附素、CD44、整合素 $\beta 4$ 、EGFR、HGF、VEGF高表达。不同的高腹膜转移性的细胞系表达蛋白分子可能不一样,说明肿瘤腹膜转移可能有多种途径、涉及不同的分子。导致肿瘤细胞腹膜转移潜力的基因可能在肿瘤干细胞中选择性表达。Sungsik等^[4]通过对卵巢癌腹腔积液单个肿瘤细胞的全基因组分析,提示转移癌细胞存在遗传异质性。胃癌腹膜转移的细胞系的基因表达,发现高表达MMP-1、内皮生长因子受体(EGFR)、肝细胞生长因子(HGF)、血管内皮生长因子(VEGF)。Zhang Y等^[5]发现SGC7901/PRL-3细胞系建立胃癌腹膜转移的裸鼠模型中MMP-2、MMP-9、p-AKT表达增加,当PI3K被LY294002抑制时,这些效果被抑制在SGC7901细胞株中,表明肝再生磷脂酶-3(PRL-3)通过PI3K/AKT途径促进癌细胞的腹膜转移和入侵。

2.2 腹膜黏附 ECC能否与腹膜黏附是发生腹膜转移的先决条件。细胞黏附分子是细胞膜上的糖蛋白,介导细胞间及细胞与ECM的选择性黏附。Okazaki等^[7]通过在裸鼠体内建立的腹膜转移模型,发现转化生长因子-1(transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)介导的PMC激活诱导一个类似于上皮间质转化(epithelial-mesen-chymal transition, EMT)的过程,并激活PMC作为与肿瘤相关的成纤维细胞的来源。腹膜纤维化促进ECC的黏附。黏附分子表达的下降或高表达则有利于肿瘤细胞的脱落和黏附于腹膜。已经证实的与肿瘤腹膜转移相关的黏附因子包括E-钙黏素、 β -连环素、 $\alpha 6\beta 4$ 整合素、抗黏附素、CD44^[4]。上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)表达与人类正常上皮细胞和大多数恶性上皮肿瘤细胞表面,其高表达加快细胞周期、促进细胞增殖、分化、迁移、免疫逃逸等多种生物学行为^[8]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一种锌依赖内源性蛋白酶,能降解ECM。卵巢癌外泌体通过传递CD44到腹膜间皮细胞促进卵巢癌转移,

其机制是高表达的CD44诱导腹膜间皮细胞分泌MMP9和清除间皮障碍^[9]。外泌体miR-21-5 p诱导PMCs的间皮间质转化(mesothelial-to-mesen-chymal transition, MMT),并通过激活TGF- β /Smad通路促进腹膜转移^[10]。

2.3 肿瘤血管生成 肿瘤血管生成依赖于肿瘤细胞及周围宿主细胞释放的促血管生长因子。Sako等^[11]研究证实人PMC可产生大量血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),并建立以PMC为靶点的腹膜转移基因治疗模型,有效抑制VEGF,从而抑制胃癌腹膜转移的发生。Zeng等^[12]利用原位种植人结肠癌的裸鼠腹腔转移模型,含血管生成抑制剂SU6668组较与对照组明显抑制肿瘤细胞生长。肿瘤细胞中VEGF高表达与恶性腹腔积液的形成密切相关,并且可能是一个独立的预后因子,其具体机制尚未完全阐明^[13]。

2.4 肿瘤免疫逃逸 Liu Y等^[14]系统阐述了外泌体在肿瘤免疫中的作用。外泌体介导的免疫抑制主要包括抑制免疫细胞(如树突状细胞、自然杀伤细胞、CD4+T细胞和CD8+T细胞)的抗肿瘤免疫反应和诱导免疫抑制细胞群(如骨髓来源细胞、Tregs和Bregs)。肿瘤源性外泌体传递细胞因子、miRNAs和功能性mRNAs在免疫逃逸中起至关重要的作用。鉴于此,免疫治疗对原发肿瘤有效,同样也会减少恶性腹腔积液患者腹腔积液的形成。

3 恶性腹腔积液的治疗

恶性腹腔积液作为恶性肿瘤晚期的临床表现之一,临床上多数采用饮食控制、应用利尿药物、腹腔穿刺置管引流、腹腔静脉分流术等对症处理缓解症状^[1,29]。临床工作中,我们应用利尿剂及腹腔穿刺引流并不能减少腹腔积液的形成,甚至由于大量穿刺放液反而增加患者血清白蛋白流失、电解质紊乱,出现低白蛋白血症、恶液质状态,甚至增加腹腔积液形成。而腹腔静脉分流术的效用也有限,反而增加了DIC、感染、肺栓塞的风险^[15]。对症治疗仅可短期缓解腹胀症状,治疗关键应在于控制原发肿瘤引起的腹膜转移,其方法可以采用全身化疗、腹腔内化疗、靶向治疗等。

3.1 全身化疗 对于胃癌腹膜转移患者,全身化疗药物首选包括氟尿嘧啶类、紫杉类、铂类等药物。一般推荐两药联合,体力状况评分较高者可采用三药联合方案。有研究表明,S-1在肿瘤中药物浓度是5-Fu的4倍,而在腹腔中更高达5.5倍,其对胃癌腹膜转移患者可能更有效。Kitayama^[16]系统综述了近10年胃癌腹膜转移的化疗方案,5-Fu类被认为是胃癌的关键药物,中位数生存期约8.0~13.2月,其中含S-1化疗方案相对于其他含5-Fu方案得到更优的结果,次选药物为紫杉类。对于胃癌腹膜转移出现腹腔积液的患者,其多以腹腔局部症状死亡,全身化疗未能使患者生活质量明显提高。

3.2 腹腔内化疗 (intraperitoneal chemotherapy, IPC) 由于血-腹膜屏障的存在,全身化疗中仅有一小部分化疗药

物突破 PPB 到达腹腔,腹腔内化疗药物浓度较低,效果欠佳,大部分化疗药物作用于全身器官产生不良反应。IPC 则可增加腹腔内化疗药物浓度、延长作用时间、不良反应轻。临床上常用 5-氟尿嘧啶、丝裂霉素 C、顺铂等传统化疗药物。腹腔内化疗药物的浓度与外周血药物浓度曲线下面积的比值(area under the curve ratios, AUS)越大说明药物在腹腔内清除率越低,越能在腹腔内保持较高浓度,同时水溶性、大分子量、易离子化、易溶解都是理想药物特征^[17]。胃癌患者腹腔内应用紫杉醇表现出良好的生存效果^[18]。对于卵巢癌患者,癌细胞倾向于渗漏到腹腔中,应用 IPC 联合全身静脉化疗相较于单纯全身静脉化疗明显改善了卵巢癌预后^[19]。Graversen 等^[20]评估了腹腔内气雾化学疗法(pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy, PIPAC)在 PM 中的可行性和有效性,23%患者脱落细胞学转阴,似乎可以改善腹膜转移患者的客观肿瘤反应、生存和生活质量。

3.3 手术联合腹腔热灌注化疗 腹腔热灌注化疗(hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, HIPEC)是一种新兴的恶性肿瘤腹膜转移的治疗方法,其对预防和治疗腹膜种植转移具有较好的临床疗效^[21-22]。一项系统的综述报道了腹膜转移的结直肠癌患者中应用细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗的有效率明显高于单纯全身静脉化疗^[23]。Lin EK 等^[24]利用细胞减灭术联合腹腔热灌注化疗治疗 31 例腹膜转移的结直肠癌患者,其 2 年及 5 年生存率分别为 57% 和 38%。多变量分析显示术后腹膜癌指数(postoperative peritoneal cancer index, PPCI)得分与预后不良有关。可能这种积极的治疗方法只适用于低腹膜癌指数患者(PCI<6)。

3.4 靶向、免疫治疗 Heiss 报道了^[25]一项 II/III 期腹腔内应用靶向药物的随机对照研究,258 例卵巢癌、胃肠癌、胰腺癌转移以及胰腺癌晚期的恶性腹水患者入组。Catumaxomab 组较单纯腹腔穿刺组,无穿刺生存期从 11 天延长到了 46 天($HR=0.254, P<0.0001$)。卡妥索单抗(Catumaxomab, Removab)是一种三功能双特异性抗体,可与 EpCAM、T 细胞(CD3⁺)、Fc γ 受体特异性结合,刺激免疫细胞释放穿孔素、抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用、吞噬作用杀伤肿瘤细胞,致靶细胞死亡。该药已在欧洲上市,适应证为恶性腹腔积液。卡妥索单抗应用于卵巢癌、胃癌、结直肠癌等多种实体瘤腹腔积液患者,取得了理想的结果,随着免疫治疗的突破性进展,细胞周检查点抑制剂、树突状细胞/肿瘤抗原疫苗等已显示出治疗恶性腹腔积液的早期希望。卡妥索单抗治疗组的无穿刺生存期(主要终点,中位数为 46 天 vs 11 天)和至下次穿刺放液的中位时间(77 天 vs 13 天)显著延长。此外,卡妥索单抗治疗组的腹水体征和症状少于对照组。虽然卡妥索单抗治疗患者的总生存期无统计学意义(72 天 vs 68 天),但一项前瞻性研究显示,卡妥索单抗治疗组生存期轻度延长,并有统计学意义(中位 OS 为 77 天 vs 44 天)^[26]。贝伐珠单抗是一种抗血管内皮生长因子(VEGF)抗体,它可能是治疗恶性腹水的另一种有用药物^[27]。大部分铂类耐药的卵巢癌患者会出现腹

腔积液,全身性化疗通常较差。全身应用 VEGF 抑制剂可能使难治性腹腔积液患者的症状缓解。我们研究组应用重组人血管内皮抑制素联合顺铂腹腔内灌注化疗治疗恶性腹腔积液的研究正在进行中。或许不久的将来,靶向及免疫治疗药物会成为恶性腹腔积液的治疗范例。

4 存在问题及展望

患者一旦出现恶性腹腔积液,往往提示预后差,易反复^[28],生存期短,临床工作中很棘手。如何能够早期识别可能出现腹膜转移的高危患者、预防腹腔积液的发生及腹腔积液出现后的最佳治疗选择等,都是临床上亟待解决的问题。下一步我们将陆续进行多项研究来探讨引起恶性腹腔积液的高危因素;并且随着多种方式联合治疗及多种分子靶向药物的出现,是否有新的药物可以应用腹腔取得更佳的控制效果,我们的研究也会为腹腔化疗药物的优化选择打下坚实的基础。

参考文献

- [1] Saif MW, Siddiqui IA, Sohail MA. Management of ascites due to gastrointestinal malignancy[J]. Ann Saudi Med, 2009, 29(5): 369-377.
- [2] R N Garrison, L D Kaelin, et al. Malignant ascites. Clinical and experimental observations [J]. Ann Surg, 1986, 203 (6): 644-651.
- [3] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast[J]. Lancet, 1989, 1:571-573.
- [4] Kazuyoshi Y, Misato T, Hiromi T, et al. Development and biological analysis of peritoneal metastasis mouse models for human scirrhous stomach cancer[J]. Cancer Sci, 2005, 96:323-332.
- [5] Kim S, Kim S, Kim J, et al. Evaluating Tumor Evolution via Genomic Profiling of Individual Tumor Spheroids in a Malignant Ascites[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):12724.
- [6] Zhang Y, Li Z, Fan X, Xiong J, et al. PRL-3 promotes gastric cancer peritoneal metastasis via the PI3K/AKT signaling pathway in vitro and in vivo[J]. Oncol Lett, 2018, 15(6):9069-9074.
- [7] Okazaki M, Fushida S, Harada S, et al. Establishing a xenograft mouse model of peritoneal dissemination of gastric cancer with organ invasion and fibrosis[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1):23.
- [8] Huang L, Yang Y, et al. Functions of EpCAM in physiological processes and diseases (Review)[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(4): 1771-1785.
- [9] Nakamura K, Sawada K, Kinose Y, et al. Exosomes promote ovarian cancer cell invasion through transfer of CD44 to peritoneal mesothelial cells[J]. Mol Cancer Res, 2017, 15(1):78-92.
- [10] Li, Q., Li, B., Li, Q., Wei, S., et al. Exosomal miR-21-5 p derived from gastric cancer promotes peritoneal metastasis via mesothelial-to-mesenchymal transition [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(9):854.
- [11] Sako A, Kitayama J, Yamaguchi H, et al. Vascular endothelial

- growth factor synthesis by human omental mesothelial cells is augmented by fibroblast growth factor -2: possible role of mesothelial cell on the development of peritoneal metastasis[J]. J Surg Res, 2003, 115(1):113-120.
- [12] Zeng QL, Chu ZH, et al. Effect of Endostatin and SU6668 combined with 5-FU on human colon cancer xenograft in nude mice [J]. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi, 2008,11 (4):376-378.
- [13] 钟漓,赵志.抗 VEGF 在治疗恶性腹水中的作用[J].消化肿瘤杂志(电子版),2015,7(3):165-170.
- [14] Liu Y, Gu Y, Cao X. The exosomes in tumor immunity [J]. Oncoimmunology, 2015, 4(9):e1027472.
- [15] Schumacher DL, Saclarides TJ, Staren ED. Peritoneovenous shunts for palliation of the patient with malignant ascites [J]. Ann Surg Oncol, 1994,1:378.
- [16] Kitayama J, Ishigami H, Yamaguchi H, et al. Treatment of patients with peritoneal metastases from gastric cancer[J]. Ann Gastroenterol Surg, 2018, 2(2):116-123.
- [17] Yonemura, Y., Canbay, E., Endou, Y., Ishibashi, H., Mizumoto, A.et al. Peritoneal cancer treatment [J]. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2014, 15(5), 623-636.
- [18] Imano, M, Okuno K, Treatment strategies for gastric cancer patients with peritoneal metastasis[J]. Surg Today, 2014, 44: 399.
- [19] Sarkar S, Malekshah OM, Nomani A, et al. A novel chemotherapeutic protocol for peritoneal metastasis and inhibition of relapse in drug resistant ovarian cancer[J]. Cancer Med, 2018, 7(8):3630-3641.
- [20] Graversen M, Detlefsen S, Bjerregaard JK, et al. Prospective, single-center implementation and response evaluation of pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC) for peritoneal metastasis [J]. Ther Adv Med Oncol, 2018, 10: 1758835918777036.
- [21] 腹腔热灌注化疗技术临床应用专家共识(2016 版)[J].消化肿瘤杂志(电子版),2016,8(03):125-129.
- [22] 胡明,詹高房,雷建,黄炯强.腹腔热灌注化疗治疗不可切除胃癌恶性腹水的临床研究 [J]. 消化肿瘤杂志 (电子版), 2014,6(01):19-22.
- [23] Yan TD, Black D, Savady R, et al. Systematic review on the efficacy of cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis from colorectal carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(24): 4011-4019.
- [24] Lin EK, Hsieh MC, Chen CH, et al. Outcomes of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for colorectal cancer with peritoneal metastasis [J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(52):e5522.
- [25] Heiss MM, Murawa P, et al. The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer: Results of a prospective randomized phase II/III trial [J]. Int J Cancer, 2010, 127(9):2209-2221.
- [26] Thadi A, Khalili M, Morano WF, et al. Early Investigations and Recent Advances in Intraperitoneal Immunotherapy for Peritoneal Metastasis[J]. Vaccines (Basel), 2018, 6(3).
- [27] Kobold S, Hegewisch - Becker S, Oechsle K, Jordan K, et al. Intraperitoneal VEGF inhibition using bevacizumab: a potential approach for the symptomatic treatment of malignant ascites? [J]. Oncologist, 2009, 14:1242-1251.
- [28] Cho JM, Jang YJ, Kim JH, et al. Timing and Survival in Patients with Recurrent Gastric Cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2014, 61(132):1148-1153.
- [29] Becker G, Galandi D, Blum HE. Malignant ascites:systematic review and guideline for treatment [J]. Eur J Cancer, 2006, 42 (5):589-597.

·读者·作者·编者·

本刊最新出版发行情况说明

《消化肿瘤杂志(电子版)》(国际标准连续出版物号 ISSN 1674-7402,国内统一连续出版物号 CN 11-9301/R)是国家卫生和计划生育委员会主管、人民卫生出版社有限公司主办、中山大学附属第一医院为主编单位的消化肿瘤专业电子学术期刊。本刊目前为中国科技核心期刊被《中国科技论文统计源期刊》《中国核心期刊(遴选)数据库》《中国学术期刊网络出版总库》《中文科技期刊数据库》全文收录。本刊旨在为广大医务工作者提供了一个优秀的专业论文发表和交流平台。本刊每年主办或参与举办的全国性和区域性大型学术会议达 10 余次,大大促进了消化肿瘤学术领域的交流,同时出版发行量大、覆盖范围广、在国内具有一定的影响力。欢迎各位同仁向本刊投稿,同时欢迎订阅。